

N型乙酰胆碱受体对急性呼吸窘迫综合征小鼠炎症反应的影响

殷宗宝, 余燕梅, 刘凡

(中南大学湘雅医学院附属海口医院急诊科, 海口 570208)

摘要 **目的** 探讨激活N型乙酰胆碱受体对急性呼吸窘迫综合征(ARDS)小鼠白细胞介素-18(IL-18)、PD-1和T淋巴细胞等的影响。**方法** 将6周龄健康清洁级雄性BALB/c小鼠60只按照完全数字随机法分为正常组(N组)、生理盐水对照组(NS组)、生理盐水+切断颈部两侧迷走神经组(NS+D组)、ARDS+切断颈部两侧迷走神经(A+D组)、ARDS组(A组)、ARDS+切断迷走神经给予乙酰胆碱受体激动剂组(A+J组),每组10只。用荧光显微镜观察小鼠右肺下叶组织结构变化。用免疫印迹法检测各组小鼠左肺磷酸化核因子 κ B(p-NF- κ B) P65和PD-1的水平,用酶联免疫吸附试验(ELISA)双抗体夹心法测定各组小鼠血清IL-18和PD-1含量,用流式细胞仪检测小鼠右肺中叶CD3⁺、CD25⁺Foxp3⁺T淋巴细胞百分比。**结果** 荧光显微镜下,N组和NS组小鼠右肺下叶间质未发现炎症细胞浸润,NS+D组肺间质有少量炎症细胞浸润,而A组和A+D组小鼠肺间质有大量炎症细胞浸润、肺泡壁增厚、肺泡结构破坏,肺泡腔消失;A+J组小鼠右肺下叶间质炎症细胞浸润较少,肺泡腔有少许破损。A组和A+D组小鼠血清IL-18和PD-1水平高于其他4组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。A组和A+D组小鼠左肺p-NF- κ BP65和PD-1蛋白含量显著高于N组、NS组、J组($P < 0.05$);A组和A+D组小鼠肺泡灌洗液CD3⁺、CD25⁺Foxp3⁺T淋巴细胞百分比高于其他3组,A+J组显著低于A+D组、A组($P < 0.05$)。**结论** 激活N型乙酰胆碱受体可通过T淋巴细胞负向调节作用直接抑制IL-18和p-NF- κ BP65的释放,还可抑制肺组织PD-1的生成,从而抑制ARDS的炎症反应,减轻ARDS病理变化。

关键词 急性呼吸窘迫综合征; N型乙酰胆碱受体; 炎症

中图分类号 R459.7 **文献标志码** A **文章编号** 0258-4646(2025)02-0133-06

网络出版地址 <https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20250115.1124.016>

DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2025.02.007

Effect of N-type acetylcholine receptor on inflammation in mouse model of acute respiratory distress syndrome

YIN Zongbao, YU Yanmei, LIU Fan

(Emergency Department, Haikou Affiliated Hospital of Central South University Xiangya School of Medicine, Haikou 570208, China)

Abstract **Objective** To investigate the effect of activating the N-type acetylcholine receptor (nAChR) on interleukin-18 (IL-18) and PD-1 in mice with acute respiratory distress syndrome (ARDS). **Methods** Sixty healthy male BALB/c mice (6 weeks of age) were divided into six groups: normal (N), normal saline control (NS), normal saline + bilateral vagotomy (NS+D), ARDS + segmentation of the vagus nerve on both sides of the neck (A+D), ARDS (A), ARDS + vagal amputation, and administration of an acetylcholine receptor agonist (A+J) groups. Each group included ten mice that were fed and housed under normal conditions. Structural changes in the right lower lung were observed using fluorescence microscopy; phosphorylated nuclear factor- κ B protein 65 (p-NF- κ BP65) levels were assessed using Western blotting; serum IL-18 and PD-1 levels were assessed using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and the double antibody sandwich method; and the percentages of CD3⁺ and CD25⁺Foxp3⁺T lymphocytes in the middle lobe of right lung were determined using flow cytometry. **Results** No inflammatory cell infiltration was observed in groups N and NS. The interstitial lobes in groups A and A+D showed severe inflammatory infiltration, thickening of the alveolar wall, destruction of the alveolar structure, and loss of the alveolar cavity. Serum IL-18 and PD-1 levels in groups A and A+D were significantly higher than those in the other four groups ($P < 0.05$). p-NF- κ BP65 and PD-1 levels in groups A and A+D were significantly higher than those in groups N, NS, and A+J ($P < 0.05$). CD3⁺ and CD25⁺Foxp3⁺T cells in groups A and A+D were significantly higher than those in the other four groups ($P < 0.05$). **Conclusion** Active nAChR can inhibit IL-18 and p-NF- κ BP65 through the negative regulation of T lymphocytes, decrease PD-1 expression in lung tissues, and alleviate the pathological changes of ARDS.

Keywords acute respiratory distress syndrome; nicotinic acetylcholine receptor; inflammation

基金项目: 海南省自然科学基金(821RC759)

作者简介: 殷宗宝(1975-),男,主任医师,硕士。

通信作者: 殷宗宝, E-mail: chaobao851024@126.com

收稿日期: 2023-12-14

网络出版时间: 2025-01-15 17:15:13

N型乙酰胆碱受体(nicotinic acetylcholine receptor, nAChR)是胆碱能抗炎通路(cholinergic anti-inflammatory pathway, CAP)的作用受体,存在于多种免疫细胞的表面,也存在于肺上皮细胞及肺泡固有巨噬细胞中^[1-2],可与迷走神经分泌的乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)结合,发挥抑制炎症的作用。T淋巴细胞作为免疫系统的重要调节细胞之一,不仅能抑制过度免疫反应引起的炎症反应,还能调节免疫应答的作用范围、反应程度和持续时间^[3-4]。急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)是因肺实质发生急性弥漫性损伤而导致的以急性呼吸窘迫和顽固性低氧血症为特征的临床综合征,T淋巴细胞的感染免疫调节在ARDS炎症反应CAP中的机制目前尚不明确。核因子 κ B(nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B)是炎症反应中重要的核转录因子,磷酸化核因子 κ B(phosphorylated nuclear factor- κ B, p-NF- κ B) P65是NF- κ B的主要标志^[5-6]。白细胞介素-18(interleukin-18, IL-18)可诱导 γ 干扰素生成,促进T细胞活化,趋化多形核白细胞到达急性炎症部位^[7]。关于IL-18和p-NF- κ B P65在ARDS炎症反应中的作用报道较多,但激活nAChR后是否通过抑制p-NF- κ B P65和IL-18的释放减轻ARDS目前尚未见报道。PD-1主要表达于活化的T淋巴细胞、自然杀伤细胞、B淋巴细胞,ARDS患者外周血T淋巴细胞PD-1过度表达与T淋巴细胞增殖能力降低、二重院内感染及病死率增加相关^[8]。本研究拟探讨ACh与nAChR结合调节T淋巴细胞并影响PD-1的表达,从而减轻ARDS炎症反应的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂及仪器:脂多糖内毒素(日本化药株式会社,进口许可证号X20000349);酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(美国RAPID Biotech公司),nAChR激动剂PNU 282987(北京索莱宝科技有限公司)。兔抗鼠p-NF- κ B P65、PD-1及 β -actin抗体、山羊抗兔IgG(美国Immuno Way Biotechnology公司)。流式细胞检测仪(LSRFortessa M型,美国BD公司),荧光显微镜(日本Olympus公司)。

1.1.2 实验动物及分组:健康清洁级6周龄雄性

BALB/c小鼠60只,体重(20 \pm 2)g,由湖北省实验动物研究中心提供[合格证号SCXK(鄂)2020-0018]。按照完全数字随机法分为正常组(N组)、生理盐水对照组(NS组)、生理盐水+切断颈部两侧迷走神经组(NS+D组)、ARDS+切断颈部两侧迷走神经组(A+D组)、ARDS组(A组)、ARDS+切断迷走神经给予nAChR受体激动剂组(A+J组),每组10只。

1.2 方法

1.2.1 ARDS小鼠模型建立:A组参照王华兵等^[9]的方法,以2%戊巴比妥钠经腹腔内注射麻醉小鼠后,将灌胃器插入其气道并缓慢注入含脂多糖内毒素的生理盐水(2 g/L, 2 mg/kg),注入后立即旋转动物,使药液在肺内分布均匀。NS组:以与A组等量的生理盐水代替脂多糖内毒素气管内注入。NS+D组:以与A组等量的生理盐水代替脂多糖内毒素气管内注入后,切断小鼠颈部两侧迷走神经。A+D组:同A组造模后切断小鼠颈部两侧迷走神经。A+J组:同A组造模后切断小鼠颈部两侧迷走神经,腹腔注射PNU282987(2 mg/kg, 1次/d, 共3 d)。N组正常喂养无特殊处理。

1.2.2 标本采集:各组小鼠造模成功后第4天,分别用2%戊巴比妥钠腹腔内注射麻醉,仰卧位开腹,取腹主动脉近心端全血2 mL,室温静置2 h后,3 000 r/min离心15 min,取上层血清冻存于-70 $^{\circ}$ C备用。取小鼠右肺下叶,用4%多聚甲醛固定。取小鼠右肺中叶和左肺,于-80 $^{\circ}$ C冻存。

1.2.3 病理组织学标本制作及观察:取小鼠右肺下叶,用4%多聚甲醛固定,石蜡包埋后制成3 μ m厚切片。经二甲苯脱蜡、无水乙醇洗蜡、95%乙醇洗片,抗原微波修复,95 $^{\circ}$ C 15 min,自然冷却至室温。正常羊血清封闭,37 $^{\circ}$ C 60 min,4 $^{\circ}$ C过夜,用磷酸盐平衡生理盐水冲洗5 min,加入荧光素,避光37 $^{\circ}$ C孵育60 min,防淬灭封片。荧光显微镜下观察。

1.2.4 血清IL-18和PD-1水平检测:按照ELISA试剂盒的说明书,检测小鼠血清IL-18和PD-1水平。

1.2.5 p-NF- κ B P65、PD-1蛋白表达检测:用Western blotting检测小鼠肺组织p-NF- κ B P65、PD-1蛋白表达情况。提取左肺组织总蛋白,BCA试剂盒检测蛋白含量。蛋白上样,行8%SDS-PAGE电泳,转至聚偏氟乙烯膜。5%牛血清白蛋白室温封闭2 h。分别加入兔抗鼠p-NF- κ B P65、PD-1及内参 β -actin抗体,4 $^{\circ}$ C孵育

过夜。山羊抗兔IgG室温孵育2 h。检测蛋白相对表达水平。

1.2.6 肺组织淋巴细胞分离及T淋巴细胞亚群测定:无菌条件下分离小鼠右肺中叶,加入1 mL 4 ℃预冷PBS,研磨至匀浆;用10 mL冷PBS冲洗,收集细胞悬液,经200目尼龙网过滤,2 500 r/min离心20 min,去除细胞碎片,用PBS洗3次,离心沉淀制成单细胞悬液;加荧光标记的CD3⁺和CD25⁺Foxp3⁺ FITC抗体各5 μL。加细胞裂解液,室温避光孵育20 min,加入PBS洗涤2次,2 000 r/min离心5 min,弃上清,加入500 μL PBS,用流式细胞仪检测,计算CD3⁺和CD25⁺Foxp3⁺T淋巴细胞的百分比。

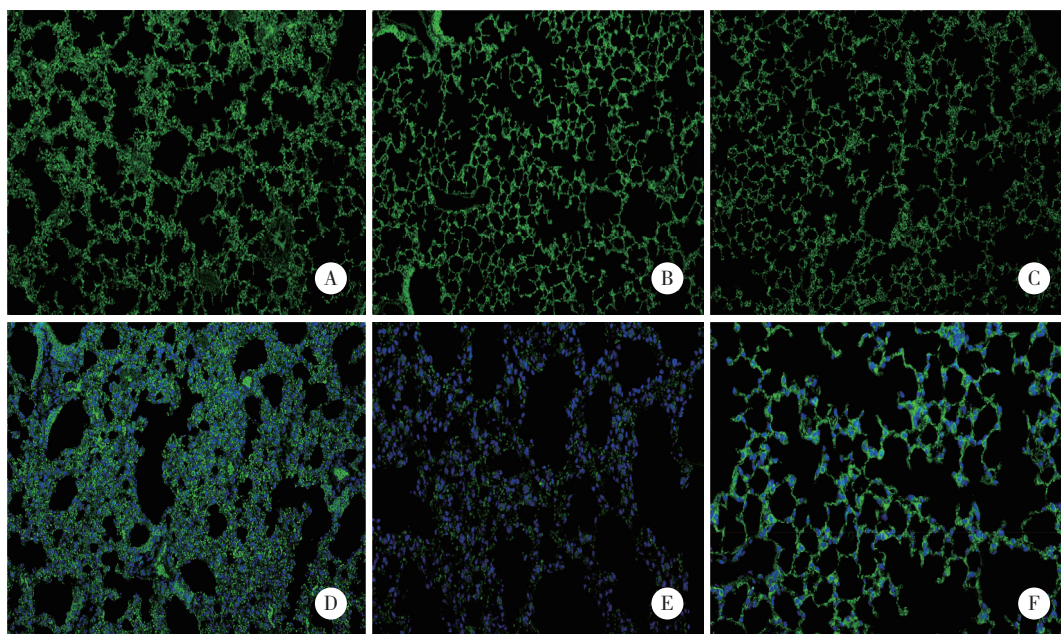
1.3 统计学分析

采用SPSS 20.0软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,差异有统计学意义时采用LSD-*t*检验进一步进行两两比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠肺组织病理变化

N组和NS组小鼠右肺下叶间质无炎症细胞浸润;NS+D组右肺下叶间质有少量炎症细胞浸润;A组和A+D组小鼠右肺下叶间质有大量炎症细胞浸润、肺泡壁增厚、肺泡结构破坏,肺泡腔消失;A+J组小鼠右肺下叶间质炎症细胞浸润较少,肺泡腔有少许破损。见图1。



A, group N; B, group NS; C, group NS+D; D, group A; E, group A+D; F, group A+J.

图1 各组小鼠肺组织病理变化 荧光染色 × 100

Fig.1 Pathological changes of the lung tissue of mice in each group Fluorescent staining × 100

2.2 各组小鼠血清IL-18和PD-1水平比较

ELISA结果显示,A组和A+D组小鼠血清IL-18和PD-1水平均高于其他4组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。A组和A+D组比较以及其他4组间比较差异无统计学意义。见表1。

2.3 各组小鼠左肺p-NF-κBP65、PD-1表达情况比较

Western blotting结果显示,A组和A+D组小鼠左肺组织p-NF-κBP65及PD-1的表达水平高于N组、NS

组、NS+D组、A+J组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。A组和A+D组间比较以及其他4组间比较差异无统计学意义。见表2、图2。

2.4 各组小鼠T淋巴细胞亚群的变化

A组和A+D组小鼠CD3⁺T淋巴细胞百分比高于其他4组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。A组和A+D组比较以及其他4组间比较差异无统计学意义。见表3。

表1 各组小鼠血清IL-18和PD-1水平比较

Tab.1 Comparison of serum IL-18 and PD-1 levels of mice in each group

Group	IL-18 (pg/mL)	PD-1 (ng/mL)
N	35.51 ± 16.83 ^(1,2)	2.40 ± 0.48 ^(1,2)
NS	36.94 ± 12.66 ^(1,2)	2.46 ± 0.54 ^(1,2)
NS+D	41.54 ± 14.21 ^(1,2)	3.72 ± 0.56 ^(1,2)
A	111.35 ± 36.81	8.59 ± 0.76
A+D	124.44 ± 27.54	9.77 ± 0.81
A+J	73.26 ± 33.39 ^(1,2)	5.80 ± 1.05 ^(1,2)

1) $P < 0.05$ vs. group A; 2) $P < 0.05$ vs. group A+D.

表2 各组小鼠左肺组织p-NF-κBP65和PD-1蛋白表达比较

Tab.2 Comparison of expression of p-NF-κBP65 and PD-1 protein in left lung tissue of mice in each group

Group	p-NF-κBP65	PD-1
N	0.34 ± 0.22 ^(1,2)	0.55 ± 0.34 ^(1,2)
NS	0.52 ± 0.38 ^(1,2)	0.58 ± 0.45 ^(1,2)
NS+D	0.82 ± 0.13 ^(1,2)	0.76 ± 0.35 ^(1,2)
A	2.16 ± 1.07	2.86 ± 0.28
A+D	2.37 ± 0.86	2.91 ± 0.17
A+J	1.21 ± 0.60 ^(1,2)	1.22 ± 0.21 ^(1,2)

1) $P < 0.05$ vs. group A; 2) $P < 0.05$ vs. group A+D.

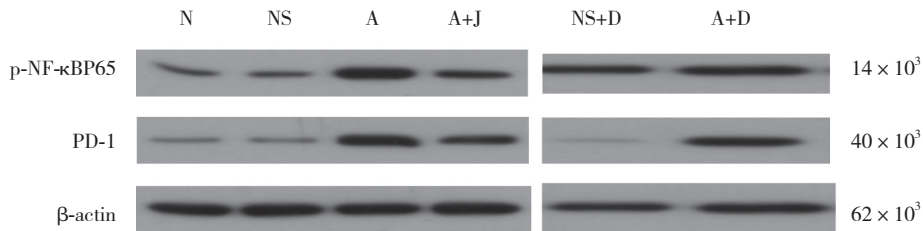


图2 各组小鼠左肺组织p-NF-κBP65和PD-1蛋白表达

Fig.2 Expression of p-NF-κBP65 and PD-1 protein in left lung tissue of mice in each group

表3 各组小鼠T淋巴细胞亚群的比较 (%)

Tab.3 Comparison of T lymphocyte subsets of mice in each group (%)

Group	CD3 ⁺	CD25 ⁺ Foxp3 ⁺
N	2.66 ± 0.55 ^(1,2)	3.01 ± 0.79 ^(1,2)
NS	3.62 ± 1.46 ^(1,2)	3.31 ± 0.72 ^(1,2)
NS+D	4.47 ± 0.62 ^(1,2)	4.17 ± 0.56 ^(1,2)
A	8.55 ± 1.07	8.98 ± 0.91
A+D	9.78 ± 0.88	9.84 ± 1.11
A+J	5.94 ± 0.27 ^(1,2)	5.00 ± 1.15 ^(1,2)

1) $P < 0.05$ vs. group A; 2) $P < 0.05$ vs. group A+D.

3 讨论

激活迷走神经后,胆碱能神经元分泌的递质与

其受体结合,对机体的炎症反应产生抑制效应,其神经调节通路为CAP。研究^[10]表明,切断肺损伤动物模型颈部两侧迷走神经后,肺损伤加重,而激活

nAChR可使肺损伤减轻。敲除小鼠nAChR基因或经颈部两侧切除迷走神经,肺损伤炎症细胞浸润程度和肺结构破坏程度增加,且病死率增高^[11-12]。本研究中,通过荧光染色发现,N组和NS组小鼠右肺下叶结构未出现病理变化,NS+D组右肺下叶间质有少量炎症细胞浸润,A组和A+D组小鼠右肺下叶间质水肿、炎症细胞浸润、增厚,肺泡结构破坏,符合ARDS组织病理学特征,而A+J组小鼠右肺下叶间质炎症细胞浸润较轻,肺间质增厚不明显,肺泡基本结构破坏较少。说明激活nAChR可减轻ARDS小鼠的肺水肿、减少肺间质炎性渗出,减轻肺损伤的严重程度,从而保护肺泡结构的稳定性,与其他研究^[11]结果一致。

NF- κ B是一种核转录调节蛋白,参与多种炎症介质和免疫相关基因的转录和调控,是免疫炎症反应中多个信号通路的关键点和聚集点^[5]。NF- κ B是由P50和P65这2种多肽组合的二聚体,NF- κ B的激活需要与其结合的抑制蛋白B的磷酸化^[13]。抑制蛋白B磷酸化及降解使NF- κ B P65磷酸化和核转位,形成p-NF- κ B P65。p-NF- κ B P65含有反式激活区,与靶基因转录元件相互作用而促进其转录,形成活化的NF- κ B,因此,p-NF- κ B P65在启动转录NF- κ B并促使其活化中起重要作用^[6]。本研究结果显示,在切断迷走神经并给予nAChR激动剂后,A+J组小鼠左肺组织中p-NF- κ B P65含量较A组和A+D组小鼠的表达降低,说明刺激迷走神经后通过nAChR可以降低抑制蛋白NF- κ B的磷酸化及降解,从而减少p-NF- κ B P65的生成,使活化的NF- κ B减少,减轻ARDS的炎症反应。IL-18不仅可以促进T淋巴细胞活化并趋化多形核白细胞向急性炎症区游走,且激活的IL-18与其受体结合形成复合体,通过NF- κ B信号途径促进炎症“瀑布效应”发生,加重细胞损伤。ARDS早期血浆中IL-18浓度升高与ARDS患者的死亡及多器官功能衰竭相关,也有研究^[7]表明抑制NF- κ B可减少脂多糖所致ARDS大鼠血清IL-18含量升高,保护ARDS大鼠。研究^[14-15]表明,抑制NF- κ B信号途径可降低IL-18的转录水平,减轻ARDS大鼠炎症反应。本研究中,A+J组小鼠肺组织p-NF- κ B P65蛋白含量和血清IL-18水平显著低于A组和A+D组,说明激活nAChR后可通过抑制p-NF- κ B P65蛋白的生成,阻止NF- κ B发生核转录、降低其活性,减少NF- κ B的释放

和活化,由此降低通过NF- κ B信号途径产生的IL-18水平。有研究^[16]表明,nAChR拮抗剂可增加细胞核内NF- κ B的表达,逆转迷走神经电刺激的保护作用,本研究中A+J组小鼠肺组织的荧光染色所见也证实了这一结果。

PD-1是免疫细胞抑制性共刺激分子,通常在活化的T细胞、单核细胞、自然杀伤细胞、B细胞、树突状细胞上表达,在内皮细胞上也有表达^[17]。活化的树突状细胞表面上的PD-1可以抑制NF- κ B的生成,减轻炎症反应^[18]。ARDS患者外周血PD-1过度表达与病死率相关,抑制PD-1过度表达可以降低ARDS的病死率^[19]。临床研究^[20-22]表明,脓毒症患者外周血PD-1明显升高,而且随着脓毒症的发展,PD-1水平也升高,阻断PD-1的生成可以改善脓毒症的临床症状,给予外源性PD-1抗体有助于脓毒症患者的恢复,因此PD-1是判断临床预后独立的预测指标。本研究中,A+J组小鼠左肺PD-1的含量及血清PD-1水平均低于A组和A+D组,说明激活nAChR可减少PD-1的表达,减轻ARDS炎症反应。

炎症反应是ARDS的本质,而过度的炎症反应会导致机体免疫调节机制失衡,其中细胞免疫功能紊乱与过度炎症反应的发生息息相关,两者叠加促进ARDS不断恶化^[23]。T淋巴细胞亚群不仅是机体免疫细胞群的重要组成部分,也是检测细胞免疫功能的重要指标^[24]。CD3⁺分布于T淋巴细胞表面,参与特异性抗原识别、活化和信号传导,反映机体的免疫状态,是鉴定T淋巴细胞的重要标记。CD3⁺T淋巴细胞是ARDS、重症肺炎等肺部疾病临床预后的重要监测指标^[25-27]。CD25⁺和Foxp3⁺也是T淋巴细胞激活的标志^[28]。本研究中,A组和A+D组的CD3⁺和CD25⁺Foxp3⁺T淋巴细胞百分比高于其他各组,提示细胞免疫紊乱在ARDS的发生中起重要作用,A+J组CD3⁺和CD25⁺Foxp3⁺T淋巴细胞百分比显著低于A组和A+D组,表明激活nAChR可以纠正ARDS的细胞免疫紊乱,减轻炎症反应。

综上所述,激活nAChR后,CAP不仅可以抑制PD-1、p-NF- κ B P65和IL-18的生成,同时还可抑制p-NF- κ B P65活化,减少IL-18的释放,纠正细胞免疫系统T淋巴细胞过度激活,减轻ARDS小鼠的炎症反应,改善肺损伤。本研究的不足之处在于未从细胞水平阐明激活nAChR后的抗炎基因靶点和纠正T淋巴细胞

紊乱的机制,以及如何通过活化的PD-1抑制p-NF- κ B的活化,有待今后进一步研究。

参考文献:

- [1] LAM DCL, LUO SY, FU KH, et al. Nicotinic acetylcholine receptor expression in human airway correlates with lung function [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2016, 310 (3): L232-L239. DOI: 10.1152/ajplung.00101.2015.
- [2] 张雨寒, 罗凤鸣. 慢性阻塞性肺疾病与毒蕈碱型胆碱能受体 [J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2021, 20 (9): 673-676. DOI: 10.7507/1671-6205.201812005.
- [3] 黄林林, 张楠. 老年COPD患者Treg/Th17免疫失衡与急性加重发作的关系及预测预后价值分析 [J]. *中国急救复苏与灾害医学杂志*, 2023, 18 (1): 94-97, 105. DOI: 10.3969/j.issn.1673-6966.2023.01.023.
- [4] 曾娟, 罗世林, 蔡懿, 等. 老年COPD患者全身炎症反应综合征与Th17/Treg失衡及TGF- β 水平变化的关系 [J]. *国际呼吸杂志*, 2023, 43 (4): 419-424. DOI: 10.3760/cma.j.cn131368-20221008-00878.
- [5] YANG HL, QIAN H, LIU B, et al. Triptolide dose-dependently improves LPS-induced alveolar hypercoagulation and fibrinolysis inhibition through NF- κ B inactivation in ARDS mice [J]. *Biomedecine Pharmacother*, 2021, 139: 111569. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111569.
- [6] ZHANG Q, LENARDO MJ, BALTIMORE D. 30 years of NF- κ B: a blossoming of relevance to human pathobiology [J]. *Cell*, 2017, 168 (1/2): 37-57. DOI: 10.1016/j.cell.2016.12.012.
- [7] 向群, 殷宗宝. IL-18和ESM-1在急性呼吸窘迫综合征大鼠中的作用 [J]. *国际呼吸杂志*, 2020, 40 (22): 1735-1740. DOI: 10.3760/cma.j.cn131368-20191225-00038.
- [8] 徐畅, 李莉, 甄军海, 等. T细胞表面程序性死亡受体-1表达水平对脓毒症患者预后的预测价值 [J]. *中华内科杂志*, 2020, 59 (10): 796-800. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20200306-00197.
- [9] 王华兵, 童延华, 徐玲文, 等. CD4⁺CD25⁺调节性T细胞/辅助性T细胞17失衡在急性肺损伤小鼠中的作用 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2016, 25 (7): 892-895. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2016.07.010.
- [10] 司亶, 马利军, 齐咏. α 7烟碱型乙酰胆碱受体与呼吸系统疾病的研究进展 [J]. *国际呼吸杂志*, 2017, 37 (24): 1907-1910. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2017.24.015.
- [11] SU X, MATTHAY MA, MALIK AB. Requisite role of the cholinergic α 7 nicotinic acetylcholine receptor pathway in suppressing Gram-negative sepsis-induced acute lung inflammatory injury [J]. *J Immunol*, 2010, 184 (1): 401-410. DOI: 10.4049/jimmunol.0901808.
- [12] 马莉, 冷玉芳, 张梦婕, 等. 胆碱能抗炎通路对器官的保护研究进展 [J]. *兰州大学学报(医学版)*, 2020, 46 (1): 10-15. DOI: 10.13885/j.issn.1000-2812.2020.01.003.
- [13] 黎雪琴, 杨凯, 白雪, 等. 吡咯烷二硫代氨基甲酸酯通过抑制NF- κ B活化改善脓毒症大鼠心肌损伤机制的研究 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2022, 31 (11): 1481-1485. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2022.11.008.
- [14] FUJISHIMA S. Pathophysiology and biomarkers of acute respiratory distress syndrome [J]. *J Intensive Care*, 2014, 2 (1): 32. DOI: 10.1186/2052-0492-2-32.
- [15] KONG GQ, HUANG X, WANG LP, et al. Astilbin alleviates LPS-induced ARDS by suppressing MAPK signaling pathway and protecting pulmonary endothelial glycocalyx [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 36: 51-58. DOI: 10.1016/j.intimp.2016.03.039.
- [16] PENG S, HANG N, LIU W, et al. Andrographolide sulfonate ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice by down-regulating MAPK and NF- κ B pathways [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2016, 6 (3): 205-211. DOI: 10.1016/j.apsb.2016.02.002.
- [17] BOUSSIOTIS VA. Molecular and biochemical aspects of the PD-1 checkpoint pathway [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375 (18): 1767-1778. DOI: 10.1056/nejmra1514296.
- [18] TU CS, WANG ZF, XIANG E, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells promote macrophage PD-L1 expression and attenuate acute lung injury in mice [J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2022, 17 (6): 564-575. DOI: 10.2174/1574888X17666220127110332.
- [19] LI W, TU J, LIU X, et al. Farnesyltransferase inhibitor FTI-277 inhibits PD-L1 expression on septic spleen lymphocytes and promotes spleen lymphocyte activation [J]. *Clin Exp Immunol*, 2017, 190 (1): 8-18. DOI: 10.1111/cei.12995.
- [20] JIANG WQ, LI XS, DING HG, et al. PD-1 in Tregs predicts the survival in sepsis patients using sepsis-3 criteria: a prospective, two-stage study [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 89 (Pt A): 107175. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.107175.
- [21] 康秀文, 刘仁洋, 刘克喜, 等. 程序性死亡因子-1在腹腔感染致脓毒症患者外周血T细胞及中性粒细胞的表达 [J]. *中华生物医学工程杂志*, 2020, 26 (3): 225-230. DOI: 10.3760/cma.j.cn115668-20190228-00018.
- [22] 杨丰帆, 谢剑锋, 杨毅. 程序性死亡受体1及其配体通路在脓毒症免疫细胞功能障碍中的作用研究 [J]. *中华内科杂志*, 2021, 60 (6): 571-574. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20201225-01048.
- [23] 黄大伟, 孙金燕. T淋巴细胞亚群在ARDS患者中的变化及意义 [J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40 (20): 2522-2524, 2528. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.20.022.
- [24] 刘光伟. 病原体感染的天然免疫防御效应 [J]. *科学通报*, 2016, 61 (27): 2986-2995. DOI: 10.1360/N972016-00330.
- [25] 畅毅平, 张玉强, 张永利, 等. CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T细胞和CD39⁺B细胞在急性呼吸窘迫综合征发病中的作用 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2018, 27 (7): 769-773. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2018.07.012.
- [26] 于乃浩, 褚玉茹, 刘娜娜, 等. CD3⁺T淋巴细胞计数联合早期预警评分对重症肺炎患者28 d死亡风险的预测价值 [J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33 (2): 72-77. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.02.012.
- [27] 王亚通, 张东霞, 丁雪辉, 等. 肺炎支原体肺炎外周血淋巴细胞CD3⁺HLA-DR⁺表达水平与疾病严重程度及预后关系研究 [J]. *创伤与急危重病医学*, 2023, 11 (1): 53-55. DOI: 10.16048/j.issn.2095-5561.2023.01.13.
- [28] KAWAKAMI R, KITAGAWA Y, CHEN KY, et al. Distinct Foxp3 enhancer elements coordinate development, maintenance, and function of regulatory T cells [J]. *Immunity*, 2021, 54 (5): 947-961.e8. DOI: 10.1016/j.immuni.2021.04.005.

(编辑 王又冬)